Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg
Vorstand: Professor Dr. med. E. Kirch

Untersuchungen über die alkalische Phosphatase in den Hiluszellen des Ovars

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius - Maximilians - Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Hans-Joachim Mende
aus
Magdeburg

Würzburg 1955

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543524_0101

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg
Vorstand: Professor Dr. med. E. Kirch

Untersuchungen über die alkalische Phosphatase in den Hiluszellen des Ovars

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius - Maximilians - Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Hans-Joachim Mende
aus
Magdeburg

Würzburg 1955

Tag der mündl. Prüfung:
30. April 1955

Referent: Priv. Doz. Dr. med. G. D h o m

Korreferent: Professor Dr. med. E. K i r c h

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät

der Universität Würzburg

M e i n e n E l t e r n
i n D a n k b a r k e i t
g e w i d m e t

Inhaltsübersicht.

A.		Problemstellung	S. 1
B.	I.	Die alkalische Phosphatase	S. 3
	a.	Chemie und Bedeutung der alk.Phosphatase	S. 3
	b.	Nachweis der alk. Phosphatase im Gewebe	S. 7
	c.	Fehlerquellen und Kontrollen	S. 11
	II.	Eigene Untersuchungen	S. 17
	a.	Untersuchungsmaterial	S. 17
	b.	Methodik	S. 18
	c.	Ergebnisse	S. 20
	III.	Deutung der vorliegenden Ergebnisse und ihre Beziehung zu endokrinen Organen	S. 39
C.		Zusammenfassung	S. 45

A. Problemstellung.

Die Hiluszellen (Hz.) des menschlichen Ovars haben seit über 3o Jahren das Interesse zahlreicher Untersucher sowohl von pathologisch-anatomischer als auch von gynäkologischer Seite gefunden. Die Auffassungen über die Bedeutung dieser Zellgruppen gingen von Anfang an weit auseinander, und auch heute noch ist manche Frage als ungeklärt zu betrachten. Gewiss haben die bisherigen Untersuchungen zu eindeutigen Vorstellungen z.B. über die Morphologie, zuletzt auch über die Häufigkeit des Vorkommens und über das Verhalten der Hz. in den einzelnen Lebensabschnitten geführt, darüber hinaus aber sind exakte Aussagen nicht möglich.

In der letzten Zeit hat nun D h o m einen weiteren Schritt getan und sich mit der bis dahin noch umstrittenen Funktion der Hz. befasst. Funktionelle Probleme nehmen ja einen immer breiteren Raum in der modernen Histopathologie ein, da die verfeinerten Untersuchungsverfahren, vor allem die histochemischen Methoden, einen tieferen Einblick in das Zellgeschehen zu vermitteln vermögen. D h o m hat nun erstmals an einem grossen Material vergleichende Untersuchungen angestellt und sich zur Klärung der Funktion verschiedener histochemischer Methoden bedient.

Es ist ihm der positive Ausfall der Ponceau-Fuchsin Färbung nach V i n e s und der Phenylhydrazin-Reaktion nach A s h b e l - S e l i g m a n in den Hz. gelungen. In Analogie zu dem positiven Ausfall dieser Reaktionen in anderen Organen

und Zellen wie z.B. der Nebenniere, den Leydig'schen Zellen im Hoden und dem Corpus luteum - von denen wir wissen, dass sie Hormonbildner sind - kommt D h o m zu dem Schluss, dass mit grosser Wahrscheinlichkeit auch den Hz. eine Bedeutung im endokrinen System zukommt. Wenn auch mit den genannten Reaktionen nur Gruppensubstanzen, Steroid-Eiweisskörper und Karbonyllipoide, nachgewiesen werden können, so glaubt jedoch D h o m aufgrund verschiedener Befunde, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann, dass die Hz. eine androgene Substanz produzieren. Wegen der Unzulänglichkeit der Methoden ist hier aber eine exakte Deutung noch nicht möglich. Die Funktion der Hz. und die sich in ihnen abspielenden Stoffwechselvorgänge bedürfen daher noch weiterer histochemischer Untersuchungen.

Aus der Literatur, besonders aus dem angelsächsischem Schrifttum, ist eine kaum noch übersehbare Zahl von histochemischen Arbeiten bekannt, die über die lebensnotwendige Bedeutung der verschiedenen Fermentsysteme für die Funktion der Zellen berichten. Eine Schlüsselstellung im Zellstoffwechsel kommt hier der Gruppe der verschiedenen Phosphatasen zu. Aus dieser Gruppe wurde die alkalische Phosphatase zum Gegenstand eigener Untersuchungen gemacht, nochzumal die alkalische Phosphatase in den Hz. bisher - soweit die Literatur überschaubar ist - nicht untersucht wurde, wenn man von einem Zufallsbefund von O b e r aus dem Jahre 195o absehen will. O b e r konnte im Rahmen anderer Untersuchungen in 2 Fällen alkalische Phosphatase in den Hz. nachweisen und unterschied einen

Zelltypus mit starker Aktivität von einem mit geringerer.

Ziel der eigenen Untersuchungen ist es:

1.) Mit Hilfe des histochemischen Nachweises der alkalischen Phosphatase Aufschluss über das qualitative und quantitative Verhalten des Fermentes in den Hz. zu gewinnen.

2.) den Fermentgehalt der Hz. mit dem Fermentgehalt in endokrinen Organen in Beziehung zu setzen.

B.I. Die alkalische Phosphatase.

a. Chemie und Bedeutung der alk. Phosphatase.

In der Gruppe der Phosphatasen ist eine Reihe von Fermenten zusammengefasst, die die verschiedenartigen Phosphorylierungsvorgänge im tierischen Organismus als sogenannte Biokatalysatoren steuern, bzw. erst ermöglichen. Bei der katalysierten Reaktion handelt es sich chemisch um die hydrolytische Spaltung von verschiedenen Phosphorsäureestern(Substrate), die sich in ihren chemischen Strukturformeln voneinander unterscheiden. Aufgrund dieser Verschiedenartigkeit der Substrate und der für diese Substrate spezifischen Phosphatasen ist man zu einem Einteilungsprinzip dieser Fermentgruppe gekommen.

Nach der Substratspezifität unterscheiden wir heute 6 Phosphataseuntergruppen: Phosphomonoesterasen, Phosphodiesterasen, Pyrophosphatasen, Metaphosphatasen, eine uncharakteristische Fermentgruppe (Lezithinase, Phytase, Adenosintriphosphatase) und Hexosephosphatase.

Darüber hinaus wurde eine weitere Klassifizierung nach dem pH-Optimum vorgenommen, in dem die einzelnen Fermente wirksam werden. Dadurch war es möglich, alkalische, saure und neutrale Phosphatasen voneinander abzutrennen. Doch sind diese Schemata noch nicht endgültig und bedürfen weiterer Klärung.

So ist auch die Auffassung über die zur alkalischen Phosphatase gehörenden Fermente noch nicht einheitlich. Festzustehen scheint, dass es sich hier um drei verschiedene Fermente oder Fermentgruppen handelt: 1. Unspezifische Phosphatase, die in den meisten Organen nachweisbar ist. 2. Hexosediphosphatase, die in der Leber zur Darstellung gelangt. 3. 5-Nucleotidase, die im Nervengewebe und im Muskel vorkommt. Allgemein versteht man aber unter der alkalischen Phosphatase das Ferment oder die Fermentgruppe mit dem unspezifischen Wirkungsbereich.

Bei den hydrolysierten Substanzen handelt es sich um Monoester der Phosphorsäure, wobei es Auffassungssache ist, ob man die Nukleotide hier mit einbeziehen will oder nicht.

Das pH-Optimum der alkalischen Phosphatase liegt zwischen 8,5 - 1o. Häufig findet man jedoch Angaben, die von einem pH-Optimum zwischen 9 - 1o sprechen (u.a. O b e r, K. H. N e u m a n n). Diese Differenz beruht auf dem unterschiedlichen Wirkungsmilieu der unspezifischen Phosphatase (pH 9,3-9,4) und der 5-Nucleotidase (pH 8,5 - 8,7), wobei der optimale Wirkungsbereich in beiden Fällen einen gewissen Spielraum aufweist.

Die alkalische Phosphatase kann also m.E. nach definiert werden als ein Ferment oder eine Fermentgruppe, die in einem Wirkungsmilieu von pH 9,3 - 9,4 Phosphorsäure, und zwar Monoester der Phosphorsäure, hydrolytisch spaltet. Diese Formulierung vernachlässigt zwar die z.T. noch ungelösten Probleme der Verschiedenartigkeit und Zahl der Phosphatasen, genügt aber anderseits als Grundlage dieser Arbeitsmethode.

Es sind Untersuchungen angestellt worden über Substanzen, die die alkalische Phosphatase aktivierend oder hemmend zu beeinflussen vermögen. Für die alkalische Phosphatase gilt übereinstimmend das Mg, das bereits G o m o r i als fermentfördernden Stoff erkannt hatte, als Aktivator, und zwar in einer als optimal bezeichneten Konzentration von 0,02 - 0,005 M. Interessant ist hier die Feststellung, dass bei Überschreiten dieser optimalen Konzentration die Fermentaktivität wieder gehemmt wird. Auf eine Reihe weiterer aktivierender Substanzen soll hier nicht näher eingegangen werden.

Eine Inaktivierung des Fermentes wird u.a. erreicht durch Hitzeeinwirkung von mehreren Minuten, Mineralsäuren, Schwermetalle (zweiwertige Kationen wie Mn, Co) und Cyanide (G o m o r i, M a y n o und R o u i l l e r). O b e r nennt in seiner Arbeit die Lugol'sche Lösung als Inaktivator. Diese Beobachtung konnte in eigenen Untersuchungen nicht bestätigt werden, da es nur zu einer Hemmung, nicht aber zu einer Inaktivierung kommt. Allerdings mit einer für Kontrollverfahren geeigneten Konstanz und Genauigkeit.

Welche Bedeutung muss den alkalischen Phosphatasen nun

im Stoffwechsel zugesprochen werden ?

Es ist bekannt, dass die Phosphorsäure mit ihren Estern eine im Organismus weit verbreitete Substanz ist, die an sehr vielen lebensnotwendigen Stoffwechselprozessen beteiligt ist. Die Phosphatasen katalysieren nun alle chemischen Vorgänge, die zum Einbau der Phosphorsäuren in organische Bausteine und zur Herauslösung aus diesen Körpern führen. So glaubt man, dass die Phosphatasen, insbesonders auch die alkalische Phosphatase, für den Stoffwechsel der Fette und Kohlenhydrate unentbehrlich sind.

Der Einfluss der Phosphatasen auf den Eiweisstoffwechsel ist umstritten. Aufgrund des Phosphatasenachweises in den Zellkernen,von dem in verschiedenen Arbeiten berichtet wurde, dachte man an eine Beteiligung im Eiweisstoffwechsel. Naheliegend war diese Vermutung insofern, als es sich bei den in den Zellkernen vorkommenden Nucleoproteiden um Eiweisskörper handelt, die phosphorsäurehaltige Nucleinsäuren enthalten. Doch in jüngster Zeit stellte sich der Nachweis von alkalischer Phosphatase im Zellkern als eine in der Methodik begründete Fehlerquelle heraus (G o e b e l und P u c h t l e r). Heute gelten die Zellkerne als überwiegend arm an alkalischer Phosphatase (D o y l e, F e i g i n, W o l f und K a b a t), was sich auch durch chemische Untersuchungen inzwischen bestätigen liess. N o v i k o f f rät daher bezüglich der Darstellung der Phosphatasen in den Zellkernen zu grosser Zurückhaltung. Durch diese Ergebnisse scheint die Beteiligung der alkalischen Phosphatase am Eiweisstoffwech-

sel, bzw. Nucleinsäurestoffwechsel wieder infrage gestellt zu sein.

b. Nachweis der alkalischen Phosphatase im Gewebe.

Dem Nachweis der alkalischen Phosphatase in Geweben liegt ein histochemisches Verfahren zugrunde. Unter Histochemie verstehen wir nach G o m o r i das Gernzgebiet zwischen Histologie einerseits und analytischer Chemie oder Biochemie anderseits. Schon diese kurze Definition macht deutlich, dass die Histochemie über die bisherigen Arbeitsmethoden hinaus ein umfangreiches Forschungsgebiet erschliesst und unsere Kenntnisse über die biochemischen und funktionellen Zusammenhänge im Organismus vertiefen kann. Diesem Vorteil steht aber der Nachteil gegenüber, dass die meisten histochemischen Verfahren äusserst kompliziert sind, mannigfachen Fehlerquellen unterliegen und Unzulänglichkeiten aufweisen, die in der Methodik begründet sind. Diesen nur angedeuteten Schwierigkeiten stehen wir auch bei der Darstellung der alkalischen Phosphatase gegenüber.

Die alkalische Phosphatase wurde erstmalig 1923 von R o b i n s o n histochemisch untersucht. 1939 erarbeiteten G o m o r i und T a k a m a t s u unabhängig voneinander eine Methode, die es ermöglichte, alkalische Phosphatase histochemisch in Geweben, speziell in Paraffin eingebetteten Geweben nachzuweisen. Seitdem hat besonders G o m o r i

seine Methode so vervollkommnet, dass sie bei einiger Übung heute allgemein angewandt werden kann.

Einige Autoren haben in Anlehnung an G o m o r i ebenfalls methodische Studien getrieben und das ursprüngliche Verfahren nach verschiedenen Gesichtspunkten abgewandelt. Dadurch ist zwar auf breiter Ebene eine weitgehende Perfektionierung der Methode an sich erreicht worden mit dem Nachteil allerdings, dass Vergleichsmöglichkeiten kaum gegeben sind und einzelne Arbeiten mit voneinander abweichenden Techniken nur für sich allein zu betrachten sind. Diese Vielzahl der in Anwendung befindlichen abgeleiteten Methoden erklärt auch überzeugend die z.T. widersprechenden Resultate.

Bei der von G o m o r i entwickelten Methode handelt es sich um ein sogenanntes indirektes Verfahren, das heisst, es wird nicht das Ferment selbst dargestellt, vielmehr das Reaktionsprodukt eines durch Fermenttätigkeit entstandenen zweiten Reaktionsproduktes. Was haben wir darunter zu verstehen ?

Zunächst einige Bemerkungen zur Vorbereitung des Materials. Nach G o m o r i, der ursprünglich an eingebettetem Material gearbeitet hat, haben andere Autoren Methoden entwickelt, die es erlauben, zunächst an fixierten Gefrierschnitten (A r n h o l d) und später an unfixierten Gewebsschnitten (E g e r und G e l l e r) alkalische Phosphatase darzustellen. Durch vergleichende Untersuchungen hat man feststellen können, dass durch die Fixierung, Dehydration und vor allem durch die Einbettung des Materials Verluste

der Fermentaktivität auftreten, deren Prozentsätze unterschiedlich angegeben werden, bis zu einem Aktivitätsverlust von maximal 75 % (D a n i e l l i). Auch hier kamen die einzelnen Autoren zu verschiedenen, zum Teil widersprechenden Resultaten.

Die eigenen Untersuchungen mussten an eingebettetem Gewebe vorgenommen werden unter Inkaufnahme des zu erwartenden Aktivitätsverlustes. An dem anfallenden Material mussten zunächst ja die interessierenden Hz. an Hand zahlreicher Schnitte gesucht werden, ehe überhaupt an eine Darstellung der Phosphatase gedacht werden konnte. Da auch vergleichende Untersuchungen an Gefrierschnitten nicht durchgeführt werden konnten, ist eine eigene Stellungnahme zu diesem Problem nicht möglich.

Im folgenden soll daher nur auf die Einbettungsmethode eingegangen werden, da die anderen Verfahren für die eigenen Untersuchungen nicht in Betracht kamen.

Das in möglichst kleine Stücke geschnittene Material wird zunächst in unvergälltem Athylalkohol im Kühlschrank fixiert (G o m o r i) und anschliessend bei Zimmertemperatur der Dehydration unterworfen, ebenfalls erst in Äthylalkohol und dann in Methylbenzoat (Letzteres nach E g e r und G e l l e r). Dann erfolgt die Einbettung in möglichst niedrigschmelzendem Paraffin für maximal 2 Stunden bei höchstens 56 Grad. Wir haben versucht, die Beeinflussung durch die Brutofentemperatur dadurch auf ein Minimum herabzusetzen, dass bei einer Temperatur von nur maximal 47 bis 48 Grad

eingebettet wurde.

Eingehende Untersuchungen, vor allem von G o m o r i und D a n i e l l i, haben gezeigt, dass die Verluste der Fermentaktivität durch die Alkoholfixierung nicht sehr erheblich sind. Demgegenüber verursacht, wie schon erwähnt, die Einbettung deutliche Verluste, die jedoch nicht lokalisiert sind, sondern an allen fermenthaltigen Stellen gleich stark sein dürften.

Die möglichst dünnen Schnitte kommen nun in die sogenannte Inkubationslösung. Diese Lösung hat ein pH-Optimum von 9,3 - 9,4 und soll eine Temperatur von 37 Grad aufweisen. Das zeitliche Optimum der Inkubation liegt zwischen 1 und 2 Stunden, eine Verlängerung oder Verkürzung ist je nach Fermentaktivität möglich, eine Verlängerung führt aber zu unliebsamen Artefakten, vor allem zu Diffusionserscheinungen.

Die Lösung besteht aus einem Substrat (z.B. Glycerophosphat, Phenylphosphat, Methylphosphat), Calciumchlorid, Magnesiumchlorid als Aktivator und aus Veronal-Natrium als Puffersubstanz. Das Ferment spaltet nun von dem Substrat Phosphorsäure ab, die sich mit dem in der Lösung vorhandenen Calciumchlorid zu unlöslichem, bzw. schwer löslichem Calciumphosphat verbindet, das am Ort der Reaktion, das heisst, am Sitz des Fermentes ausfällt.

Da Calciumphosphat als weisse Substanz mikroskopisch nicht nachweisbar ist, muss durch einen weiteren chemischen Vorgang versucht werden, einen farblich differenzierteren Stoff zu bilden, der sich mikroskopisch darstellen lässt.

Hierzu bringt man die Schnitte in eine Lösung von Kobaltnitrat, das sich in Form einer Adsorptionsverbindung an das ausgefällte Calciumphosphat anlagert. Das Kobaltnitrat wird nun durch Ammoniumsulfid in Kobaltsulfid überführt, das schwarze bis braune Niederschläge - je nach Intensität - bildet. Es handelt sich also um mehrere, hintereinander geschaltete chemische Reaktionen; das erste unmittelbar durch Fermentaktivität entstehende Reaktionsprodukt ist das Calciumphosphat, das Kobaltsulfid stellt dann das zweite indirekte Reaktionsprodukt dar.

Die Dauer der Inkubation ist für die Lokalisation und vor allem für die Menge des Reaktionsproduktes, das ja den manifest gewordenen Ausdruck für die Fermentaktivität darstellt, von Bedeutung. Von den noch zu besprechenden Fehlerquellen abgesehen ist die Aussage möglich, dass mit zunehmender Inkubationsdauer auch die Menge des Reaktionsproduktes zunimmt. Dies ist verständlich, denn bei längerer Verweildauer in der Lösung kann auch mehr Ferment wirksam werden.

c. Fehlerquellen und Kontrollen.

Dem Verfahren haftet eine Anzahl Fehlerquellen (Auftreten von Artefakten) an, ohne deren Kenntnis und Beseitigung die Methode unbrauchbar ist. Es ist nach den gemachten Erfahrungen heute durchaus möglich, alle infrage kommenden Fehlerquellen zu eliminieren. Das kann einmal geschehen durch entsprechende Kontrolluntersuchungen, aber auch - und das

dürfte noch wesentlicher sein - durch minutiöses und genaues Arbeiten selbst. Vor allem bei vergleichenden Untersuchungen ist eine exakte Methodik unerlässlich. Je präziser die Versuchsbedingungen eingehalten werden, umso sicherer sind Fehlerquellen zu vermeiden.

Im folgenden werden die verschiedenen Fehlerquellen und ihre Ausschaltung besprochen:

1. Verluste der Fermentaktivität.

Es wurde bereits der Einfluss der Fixation, der Dehydration und der Einbettung auf die Fermentaktivität besprochen. Gerade bei den durch die Einbettung entstehenden Aktivitätsverlusten muss in Betracht gezogen werden, dass dadurch falsche negative Reaktionen entstehen können, obwohl in Wirklichkeit Phosphatase in den Geweben vorhanden ist. Allerdings muss es sich dann schon um einen aussergewöhnlich starken Aktivitätsschwund handeln. Diesen Nachteil muss man durch Verlängerung der Inkubationszeit auszugleichen suchen, wobei von Fall zu Fall die optimale Zeit gefunden werden muss. Für rein quantitative Untersuchungen ist daher die Einbettung des Materials vor der Inkubation sehr ungeeignet.

2. Diffusion des Fermentes.

Durch unsachgemässe Fixierung, inadäquate Fixierungslösungen oder durch eine zu spät erfolgende Fixierung entstehen sogenannte Diffusionsartefakte des Fermentes, das heisst, das Ferment diffundiert aus dem ursprünglichen Lokalisationsbereich heraus in die an sich fermentfreien umliegenden Gewebsschichten. Besonders störend wirkt sich die-

se Fermentdiffusion aus hinsichtlich der Deutung des Fermentgehaltes in den Zellkernen. Die Zellkerne adsorbieren sekundär - unter ungünstigen Bedingungen auch noch während der Inkubation (F e i g i n) - relativ leicht das Ferment. Diese sekundäre Adsorption hängt weitgehend von dem Lebenszustand der Gewebe ab. Die Diffusion verursacht also eine Dislokalisation des Fermentes und dadurch eine sogenannte falsche positive Reaktion.

Bei den eigenen Untersuchungen spielte der Lebenszustand des Materials eine grosse Rolle. Wie aus der Literatur zu entnehmen ist, wurden Untersuchungen über die alkalische Phosphatase fast ausschliesslich an tierischem Material vorgenommen, das ja in jedem gewünschten Lebenszustand aufgearbeitet werden kann. Untersuchungen an Sektionsmaterial wurden nur nebenher durchgeführt.

Für die eigenen Untersuchungen stand nur Sektionsmaterial zur Verfügung, das unter vollkommen ungleichen Bedingungen zur Aufarbeitung kam. Allein die Zeit zwischen Todeseintritt und Fixierung unterlag Schwankungen von 6 bis maximal 52 Stunden.

Die postmortalen Veränderungen, denen die hochempfindlichen Fermente unterworfen sind, wirken sich in zweifacher Hinsicht aus, einmal kommt es durch autolytische Vorgänge zu einer Zerstörung der Fermente, zum anderen machen sich verstärkt Diffusionserscheinungen bemerkbar. Nach F e i g i n W o l f und K a b a t nimmt die Teilchengrösse von Substanzen mit Phosphataseaktivität nach dem Tode rasch ab.

Die Fermentaktivität leidet darunter nicht, die Diffusion soll aber dadurch erleichtert werden, denn das Ferment ist intra vitam in hochmolekularer Form vorhanden.

Tatsächlich konnte in eigenen Untersuchungen festgestellt werden, dass zwischen der Zeitdauer der Einwirkung postmortaler Vorgänge und der Stärke der Diffusion eine Relation besteht. Bei allen Fällen, die später als ungefähr 20 Stunden - genaue Werte lassen sich nicht angeben - post mortem zur Aufarbeitung kamen, konnte regelmässig eine verschieden starke Diffusion nachgewiesen werden, während bei den Fällen unter 2o Stunden post mortem nur vereinzelt Diffusion auftrat.

Die Intensität der postmortalen Veränderungen konnte natürlich nicht exakt erfasst werden, wir wissen ja, dass die Organismen sich hierin sehr unterschiedlich verhalten uund die Fäulniserscheinungen oft unabhängig von der Zeitdauer sind.

3. Adsorption von Phosphaten.

Es kann zu sekundärer Adsorption der entstehenden Phosphate in benachbarte Gewebsformationen kommen, wenn diese eine besondere Affinität aufweisen. D a n i e l l i ist hier zu sehr interessanten Ergebnissen gekommen. Er hat festgestellt, dass die Gewebe mit hoher Phosphataseaktivität eine besondere Affinität zu Calciumphosphaten allgemein aufweisen. Aus eigener Erfahrung konnte dieser Artefakt vernachlässigt werden, da wir selbst bei starker Aktivität und Ausschluss von Diffusionserscheinungen kaum eine Adsorption

in der Umgebung haben nachweisen können.

4. Anwesenheit von Phosphaten vor der Inkubation.

Durch die Inkubation und den nachfolgenden Darstellungsprozess werden die bereits vorhandenen Phosphate ebenso schwarz dargestellt wie die durch Fermentaktivität entstandenen. Kontrolluntersuchungen s.unten.

5. Affinität des Kobaltnitrats zu den Geweben.

Die Schnitte nehmen bei Gewebsaffinität eine diffuse schwärzliche bis schmutzige Färbung an, die falsche positive Reaktionen entstehen lässt. Bei den eigenen Untersuchungen konnte weder eine Gewebsaffinität, noch eine Affinität der Hz. zum Kobaltnitrat festgestellt werden. Kontrolluntersuchungen s. unten.

6. Affinität der Ammoniumsalze zum ionisierbaren Eisen.

Ist Eisen in den Geweben vorhanden, so kommt es bei Einbringung der Schnitte in die Ammoniumsulfidlösung zur Bildung von Eisensulfid, das wie das Kobaltsulfid einen schwarzen unlöslichen Niederschlag bildet. Auch hier ist wieder die Gefahr einer falschen positiven Reaktion gegeben. Bei den eigenen Untersuchungen wurden mehrfach Kontrollschnitte mit der Berlinerblau-Reaktion angefertigt, es wurde weder im Hilusgewebe, noch in den Hz. Eisen nachgewiesen.

7. Verluste von Phosphaten.

Bei der der Inkubation folgenden Behandlung der Schnitte mit Aqua dest., Kobaltnitrat und Ammoniumsulfid kann es unter ungünstigen Bedingungen zu Phosphatverlusten kommen. D a n i e l l i hat darauf hingewiesen, dass hauptsächlich die Spülungen in Aqua dest. für diese Verluste verantwortlich zu

machen sind. Es genügen hier bereits Schwankungen von Minuten, um starke Verluste hervorzurufen. Durch Einhaltung bestimmter optimaler Spülungszeiten, die 1o Minuten maximal nicht überschreiten dürfen, können Artefakte weitgehend vermieden werden.

Ausser den unter Nr.6 angeführten Kontrolluntersuchungen zum Eisennachweis, die nur unregelmässig vorgenommen wurden, wurden regelmässige Kontrollreihen durchgeführt, die zum Ausschluss der im eigentlichen Darstellungsverfahren auftretenden Artefakte dienten:

1. Kontrollreihe: Hemmung des Fermentes durch Einbringen in Lugol'sche Lösung für 1o Minuten. Anschliessend kurze Spülung in Aqua dest..

2. Kontrollreihe: Inkubation ohne Substrat unter sonst unveränderten Bedingungen.

3. Kontrollreihe: Keine Inkubation, sondern nur Darstellung mit Kobaltnitrat und Ammoniumsulfid.

Bei Vermeidung aller Fehlerquellen lässt sich bei positivem Ausfall der Phosphatasereaktion folgende Aussage machen:

Das durch schwarze Niederschläge mikroskopisch nachweisbare Kobaltsulfid ist das Umwandlungsprodukt einer durch fermentative Tätigkeit aus einem entsprechenden Substrat abgespaltenen Phosphorsäure. Wir können die Schwärzung daher als Beweis für die Tätigkeit eines Fermentes ansehen, das in alkalischem Milieu ein phosphorsäurehaltiges Substrat hydrlysiert. Die Lokalisation der Niederschläge ist mit dem

Sitz des Fermentes identisch. Aus der Intensität der Schwärzung sind Rückschlüsse auf die Aktivität möglich.

II. Eigene Untersuchungen.

a. Untersuchungsmaterial.

Zur Untersuchung kamen alle im Sektionsgut des Pathologischen Instituts der Universität Würzburg anfallenden Ovarien ohne Rücksicht auf die seit dem Todeseintritt verstrichenen Zeiten. Es wurden alle Altersstufen von der Pubertät an herangezogen; die Altersverteilung erstreckt sich daher von 15 bis zu 95 Jahren. So wurden insgesamt 33 Fälle untersucht, wobei es sich bis auf zwei Fälle jeweils um Ovarialpaare handelt.

Die Adnexe wurden sofort nach der Leichenöffnung entnommen. Die Ovarien wurden dann bis auf eine schmale Kalotte vom anhängenden Hilus und Mesovar abgetrennt, sodass die Schnitte neben dem Hilusgewebe vor allem auch die für die Lokalisation der Hz. so wichtige Hilus-Ovarialstromagrenze mit einbezogen. Das so erhaltene Gewebe wurde dann in drei zum Ovar senkrecht verlaufende Längsstreifen geschnitten, um die Stücke den Fixierungs- und Dehydrationslösungen möglichst intensiv aussetzen zu können. Vor der Fixierung wurde das Material im Kühlschrank bei einer Temperatur von -4 Grad 1/2 Stunde vorgekühlt.

b. Methodik.

Wie bei der Besprechung des Nachweises der alkalischen Phosphatase schon betont wurde, sind verschiedene Methoden in Anwendung, sodass es notwendig erscheint, das eigene Verfahren genauer aufzuzeigen, um evtl. späteren Untersuchungen Vergleichsmöglichkeiten zu bieten. Es wurde weitgehend das von G o m o r i angegebene Verfahren zugrundegelegt, jedoch wurden auch die neueren Verfahren (R o u l e t) mit berücksichtigt:

1. Fixierung des Materials in unvergälltem 80 % Äthylalkohol 24 Stunden bei einer Temperatur von -1 Grad.
2. Dehydration 24 Stunden bei Zimmertemperatur.
   a. Absoluter Äthylalkohol 12 Stunden.
   b. Methylbenzoat 12 Stunden.
3. Benzol 1/2 Stunde.
4. Paraffineinbettung 1 3/4 Stunden bei 48 Grad mit einmaligem Wechsel. Es wurde Paraffin mit einem Schmelzpunkt von 42 - 44 Grad verwendet, zum Blockgiessen Paraffin Schmelzpunkt 52 - 53 Grad.
5. Anfertigung der Schnitte erfolgte durchschnittlich 8 - 14 Tage nach der Einbettung. (Nach G o m o r i und anderen ist die Fermentaktivität in Paraffin für Monate haltbar.) Schnittdicke 15 my. Maximaltemperatur des Auffangwassers 4o Grad. Aufziehen auf Objektträger mit Eiweissglyzerin. Trocknen der Schnitte im Brutofen bei 48 Grad 2o Minuten.
6. Entparaffinieren in folgender Reihe:

Xylol I	3o Sekunden
Xylol II	3o "
96 % Äthylalkohol I	3o "
96 % Äthylalkohol II	3o "

7. Inkubation in der Gomori'schen Lösung:

3 % Natriumglycerophosphat		1oo	ccm
2 % Calciumchlorid		25o	ccm
10 % Magnesiumchlorid		1oo	Tropfen
Veronal-Natrium		5-1o	g
Aqua dest	ad	5oo	ccm

pH-Wert der Lösung 9,3 - 9,4.

Inkubationszeit 5 Stunden bei einer Temperatur von 37 Grad.

8. Spülung der Schnitte in Aqua dest. 1 Minute.
9. 2 % Kobaltnitrat 2 Minuten.
10. Spülung in 5 mal gewechseltem Aqua dest. je 2 Minuten.
11. Ammoniumsulfid (8 Tropfen einer 1o % Lösung auf 1oo ccm Aqua dest.) 5 Minuten.
12. Spülung unter fliessendem Leitungswasser 1o Minuten.
13. Gegenfärbung mit Hämatoxylin - Eosin.
14. Eindecken mit Caedax.

Die Inkubationsdauer von 5 Stunden wurde nach mehreren Voruntersuchungen als die optimale Zeit erkannt. Eine kürzere Dauer, vor allem auch die von G o m o r i angegebenen Zeiten, stellte sich wegen der durch die späte Fixierung auftretenden Aktivitätsverluste als unzweckmässig heraus. Eine Variation des Zeitfaktors konnte nicht durchgeführt werden, da die Zahl der zur Verfügung stehenden Schnitte mit Hz.Komplexen nicht ausreichte, anderseits überzählige Schnitte für die Kontrollreihen benötigt wurden.

Die Calciumkonzentration wurde sehr hoch gewählt, da G o m o r i und andere festgestellt hatten, dass Zellkernanfärbungen und Diffusionsartefakte vermieden werden können, wenn die Calciumkonzentration eine optimal hohe ist.

Es wurde nun so vorgegangen, dass von jedem Fall durchschnittlich 1oo Schnitte hergestellt wurden und zwar im allgemeinen in Stufenschnitten. Eine derartig grosse Zahl von

Schnitten ist notwendig, da es sich bei den Hz. ja nicht um parenchymatöses Gewebe handelt, dessen Auswertung an einer relativ begrenzten Anzahl möglich ist, sondern um Zellkomplexe, ja teilweise nur um einzelne Zellen, deren Ausdehnung sich in Grössenordnungen von my-Werten bewegt.

Aus diesen 1oo Schnitten wurde jeder 3. ausgewählt und zum Nachweis der Hz. überhaupt mit der üblichen Hämatoxylin-Eosin Färbung behandelt. Wir erhielten so durchschnittlich 3o Schnitte, die neben dem Hz.-Nachweis noch die Möglichkeit boten, verschiedene Hz.Komplexe ein und desselben Falles darzustellen. Liessen sich Hz. nachweisen, wurden die jeweils benachbarten Schnitte der Hz. haltigen Präparate inkubiert. Dieses Vorgehen gab die Gwähr, dass in den meisten Fällen dieselben Komplexe gleichzeitig nachgewiesen und inkubiert werden konnten. Wenn die Zahl der Hz. haltigen Schnitte ausreichte, wurden alle drei Kontrollreihen durchgeführt, wenigstens aber wurden die Kontrollen bei einem Fall insgesamt vorgenommen.

c. Ergebnisse.

Vor Besprechung der Ergebnisse der eigenen Untersuchungen muss kurz die Morphologie der Hz. dargestellt werden.

Bei den Hz. handelt es sich um epithelähnliche Zellen, die im Hilus ovarii, im Mesovar und an den Polen des Ovars, hier besonders an der Ansatzstelle des Ligamentum ovarii propium, in grösseren und kleineren Komplexen zu finden sind.

Meistens begleiten sie die Nerven in para-, peri- und intraneuraler Lagerung. Die Komplexe sind im allgemeinen gut vaskularisiert, enthalten ein zartes Gitterfasergerüst und mitunter Septen aus kollagenen Faserzügen. (B e r g e r, H. O. N e u m a n n, W a l l a r t, D h o m)

Die einzelne Hz. ist gekennzeichnet durch einen runden, bläschenförmigen Kern, der eine deutliche Strukturierung mit einem fein verteilten Chromatin aufweist. Im Gegensatz zu der mehr konstanten Gestalt der Zellkerne ist die äussere Form der Hz. sehr verschieden; es wurden rundliche, eckige, ovale, dreieckige Formen usw. beschrieben. Besonders bei dichter Anordnung in einem Komplex ist eine Bestimmung der Zellform kaum durchführbar, da deutlich Zellgrenzen hier nicht nachweisbar sind. Die Grösse der Hz. schwankt zwischen 2o und 3o my, jedoch kommen auch hyperplastische Formen vor. Das Cytoplasma ist wabig-schaumig und acidophil. Ein Gemisch verschiedener Lipoide ist meist in Form kleinerer oder grösserer Fettröpfchen vorhanden. Ansammlungen von braunem Pigment sind häufig in den Hz. nachzuweisen, wobei die feineren und auch gröberen Pigmentgranula besonders mit zunehmendem Alter reichlich vorkommen.

Differentialdiagnostisch müssen die Hz. gegenüber histiozytären Zellen abgegrenzt werden, die ebenfalls in peri- und paraneuraler Lagerung auftreten können. Diese auffallende, identische Lokalisation stützt neben anderen Befunden die Auffassung von der mesenchymalen Herkunft und Rückbildung der Hz.. Dann können bei diesen histiozytären

Zellelementen Umwandlungsformen vorliegen, die entweder Entfaltungs- oder Rückbildungsstadien der Hz. darstellen (W a l l a r t). Soviel zur Morphologie der Hz.

In welchen Zellen, bzw. in welchen Gewebsbestandteilen lässt sich nun an dem untersuchten Material - Ovarialkalotte mit anhängendem Mesovar - alkalische Phosphatase nachweisen ?

Aus der Literatur sind bisher zwei Arbeiten bekannt, die sich u.a. mit dem Nachweis des Fermentes im menschlichen Ovar und Ovarialanhang beschäftigt haben. 1950 stellte O b e r fest, dass sich im Ovar alkalische Phosphatase konstant darstellen lässt in den Zellen der Theca interna der wachsenden Follikel, in den Granulosaluteinzellen des Corpus luteum und in den zwischenliegenden Kapillaren. (Der Nachweis der Fermentaktivität in den Hz. bei zwei Fällen wurde bereits erwähnt.) 1953 untersuchte G e n e s i das weibliche Genitale auf Fermentaktivität und kam bezüglich der alkalischen Phosphatase zu folgendem Ergebnis: Eine Fermentwirkung ist konstant vorhanden in den Kapillaren und in der Intima der Arterien, in den Zellen der Theca interna und externa, in den Epithelien der Granulosa folliculi sowie im Corpus luteum. (An Hz. wurde kein Befund erhoben.)

Die eigenen Untersuchungen bestätigten die Angaben bezüglich der Zellen der Theca interna und externa nur in einem Fall, bei dem zufälligerweise die schmale Ovarialkalotte noch Bestandteile eines Follikels aufwies. Weiter be-

stätigten sich die Befunde über den konstanten Fermentgehalt in den Kapillarendothelien auch im Mesovar. Gegenüber Artefakten, vor allem gegen Aktivitätsverluste und Diffusionsvorgänge, scheint das hier lokalisierte Ferment sehr resistent zu sein, da wir im Vergleich zu den Hz. keine Aktivitätsverluste und Diffusionserscheinungen in die Umgebung beobachten konnten. Vielleicht ist hier der Schluss erlaubt, dass die Kapillarendothelien das Ferment besonders fest halten. Mit der gleichen Konstanz wie in den Endothelien liess sich auch in den polymorphkernigen Leukozyten innerhalb der Gefässe Fermentaktivität nachweisen, ein bereits schon mehrfach erhobener Befund.

Besonders der konstante Fermentgehalt in den Kapillarendothelien war für die eigenen Untersuchungen eine sehr erwünschte zusätzliche Kontrollmöglichkeit, vor allem dann, wenn die Fermentaktivität in den Hz. eine geringe war. Eine methodische Fehlerquelle konnte allein dadurch schon ausgeschlossen werden. Selbst bei den Fällen, die infolge zu lang dauernder postmortaler Einwirkungen nur noch eine sehr geringe Aktivität in den Hz. aufwiesen, liess sich die Fermentwirkung in den Kapillarendothelien noch deutlich darstellen.

Bei den untersuchten 33 Fällen konnten nun in 28 Fällen Hz. nachgewiesen werden, was einem sich mit den Literaturangaben durchaus deckendem Prozentsatz von 84,8 % entspricht (S t e r n b e r g). Die Fälle verteilen sich auf die verschiedenen Altersgruppen - die Einteilung wurde

in Anlehnung an D h o m vorgenommen - annähernd gleichmässig:

Altersgruppe 15 - 45 Jahre: 10 Fälle - 8 Fälle Hz.positiv.

Altersgruppe 45 - 6o Jahre: 11 Fälle - 1o Fälle Hz.positiv.

Altersgruppe über 6o Jahre: 12 Fälle - 1o Fälle Hz.positiv.

Bei allen 28 Fällen mit positivem Hz.Befund liess sich eine Fermenttätigkeit in den Hz. nachweisen. Die Stärke der Fermentwirkung war in den einzelnen Fällen sehr unterschiedlich, sodass wir eine Intensitätsskala aufstellten, um gewisse Anhaltspunkte und Vergleichsmöglichkeiten zu gewinnen. Es bedarf keiner Erörterung, dass diese Gradeinteilung rein subjektiv ist und daher Fehldeutungen nicht ganz ausschliesst. Aufgrund der Befunde unterteilten wir in 4 Aktivitätsstufen:

I stärkste Wirksamkeit - totale Schwärzung der ganzen Zelle ohne erkennbare Strukturen.

II starke Wirksamkeit - Schwärzung der ganzen Zelle mit erkennbaren Strukturen.

III schwache Wirksamkeit - Schwärzung allein des Cytoplasmas.

IV schwächste Wirksamkeit - bräunlich-schmutzige Schummerung des Cytoplasmas.

Die Grössenangaben über die Hz.Komplexe sind ebenfalls subjektiv gewonnen, sie gehen auf Vorschläge von P a w l o w s k i und D h o m zurück, die beide von grossen, mittleren und kleinen Hz.Komplexen sprechen.

Die folgende Tabelle enthält zunächst die untersuchten Fälle in summarischer Zusammenfassung ohne Deutung und Einordnung.

Tabelle Nr. 1

Phosphatasegehalt der Hiluszellen.

L.N.	S.N.	Alter	Zeitfaktor	Hz.Kompl.	Aktivität
1	471/54	29	23	-	-
2	473/54	34	6	-	-
3	478/54	72	23	gross	I - II
4	482/54	21	12	klein	I
5	486/54	81	9	klein	III - IV
6	487/54	56	8	klein	III - IV
7	489/54	6o	18 1/2	mittel	I - II
8	49o/54	46	18 1/2	mittel	I
9	494/54	5o	38	klein	II
10	501/54	5o	36	gross	II - III
11	5o6/54	44	36	mittel	II - III
12	5o7/54	45	33 1/2	mittel	II - III
13	5o8/54	68	20	klein	IV
14	5o9/54	61	15	gross	II - III
15	6/55	58	13	gross	I
16	10/55	72	1o	klein	III
17	22/55	15	28	gross	I
18	24/55	58	18	gross	III - IV
19	3o/55	24	16	klein	II - IV
20	32/55	25	12	gross	I - II
21	35/55	74	33	gross	III - IV
22	36/55	57	19	-	-
23	38/55	79	23	-	-
24	39/55	34	6	klein	II - III

L.N.	S.N.	Alter	Zeitfaktor	Hz.Kompl.	Aktivität
25	43/55	76	19	mittel	I
26	44/55	40	8 1/2	mittel	III - IV
27	46/55	85	52	mittel	III - IV
28	48/55	57	47	klein	III - IV
29	49/55	85	25	gross	I - II
3o	45/55	75	23	-	-
31	61/55	59	9 1/2	gross	I
32	63/55	47	8 1/2	gross	I
33	124/55	95	33 1/2	gross	II - IV

Aus dieser Übersicht geht zunächst hervor, dass die unterschiedlichen Aktivitätsstufen in keiner gestzmässigen Relation zu den anderen, in der Tabelle aufgeführten Faktoren stehen. Vor allem die verschiedenen Zeitspannen (Zeitfaktor), die seit dem Todeseintritt vergangen sind, erschweren eine exakte Deutung.

Wir beobachteten nun, dass mit zunehmendem Zeitfaktor die Aktivität schwächer wird - bei Überschreiten der 3o Stundengrenze mit einer gewissen Regelmässigkeit -, doch können wir gerade hinsichtlich der Stärke der Fermentwirksamkeit daraus keine Schlüsse ziehen. Es muss bei diesen Fällen in Rechnung gestellt werden, dass die Aktivität ursprünglich - in unverändertem Gewebe - weitaus stärker war, durch eingetretene Fermentverluste z.B. jedoch nur noch abgeschwächt dargestellt werden kann.

Anderseits beweisen die Fälle mit relativ kurzem Zeitfaktor und gleichzeitig schwacher Aktivität - in drei Fällen sogar nur in einer Stärke von III - IV -, dass unabhängig von den günstigen Versuchsbedingungen Hz.Komplexe vorkommen, deren Fermentwirkung eine sehr geringe ist. Bei diesen Fällen muss die Frage erörtert werden, ob das Ferment tatsächlich nur in geringer Menge vorhanden ist, ob es evtl. hauptsächlich in inaktiver Form in der Zelle verankert ist oder ob es durch unbekannte cytoplasmatische Substanzen in seiner Tätigkeit gehemmt wird. Diese drei Möglichkeiten stehen bei negativer, bzw. schwacher Aktivität zur Diskussion, eine Entscheidung hierüber konnte bisher mangels geeigneter Untersuchungsverfahren noch nicht gefällt werden.

Im Gegensatz zu diesen Befunden beobachteten wir ferner Fälle mit Hz.Komplexen, die selbst bei einem ausgesprochen verlängerten Zeitfaktor von 25 und 28 Stunden noch den Wirkungsgrad I aufweisen. Auffallend ist hier, dass die Schwärzung der Kapillarendothelien im Vergleich mit anderen Fällen keine Zunahme der Intensität zeigt; die starke Aktivität trotz des langen Zeitfaktors ist also lediglich auf die Hz. beschränkt. Diese Beobachtung dürfte eine methodische Fehlerquelle und ein besonderes Verhalten dieser Fälle aus unbekannten Ursachen wohl ausschliessen.

Die Aktivitätsunterschiede sind nicht nur von Fall zu Fall verschieden, sondern auch bei ein und demselben Fall lassen sich Differenzen in der Fermenttätigkeit nachweisen. Die in der Tabelle aufgeführten Aktivitätszahlen geben je-

weils nur die höchste Stufe der Wirksamkeit an, die bei einem Fall nachgewiesen werden konnte. Zu dieser Vereinfachung haben wir uns entschlossen, um den Überblick klarer zu gestalten. Diese Aktivitätsschwankungen innerhalb eines Falles sind jedoch nicht die Regel, es gibt durchaus eine, wenn auch kleine Zahl von Fällen, bei denen alle Hz.Komplexe die gleiche Aktivität aufweisen ohne Beziehung zur Grösse oder Anordnung der Komplexe.

Diese Gleichmässigkeit der Aktivität ist hauptsächlich bei den mittleren und schwachen Aktivitätsgraden festzustellen, also bei der Stärke III - IV. Die Fälle mit starker Wirksamkeit sind im allgemeinen differenzierter. Hier kann man neben stark aktiven Komplexen auch Komplexe antreffen, die weniger stark aktiv, ja in zwei Fällen sogar ganz negativ sind.

Auch die Aktivität der einzelnen Komplexe ist nicht immer gleichmässig intensiv. Relativ häufig sahen wir vor allem grössere Komplexe, bei denen wir neben einer geringen Zahl von aktiven Zellen, und zwar meistens stark aktiven Zellen, den überwiegenden Teil des Komplexes schwächer aktiv antrafen. Die räumliche Anordnung ist in diesen Fällen meist so, dass die stark aktiven Zellen randständig lagern, mitunter die Komplexe kreisförmig umschliessen, während die zentraleren Komplexanteile schwächer aktiv sind. Eine Beziehung zu den zwischengelagerten Kapillaren stellten wir nicht fest.

Bei den intraneural gelegenen Zellen ist die Aktivität

regelmässig gleich stark. Sind gleichzeitig intra- und perineural gelegene Zellen vorhanden, so fanden wir die intraneuralen Zellen meist stärker aktiv als die perineuralen, die oft auch ganz fermentfrei waren.

In allen Fällen mit einem positiven Hz.Befund lässt sich also eine Aktivität der alkalischen Phosphatase nachweisen, und zwar mit einer inkonstanten Intensität. Wir beobachteten verschiedene, später noch zu erörternde, Zelltypen mit unterschiedlichen Aktivitätsgraden, die nicht nur in den einzelnen Fällen getrennt auftreten, sondern auch bei verschiedenen Komplexen des gleichen Falles nachgewiesen werden können.

Zur Beurteilung des Verhaltens der alkalischen Phosphatase in den einzelnen Lebensabschnitten wurden die untersuchten Fälle nach Altersgruppen getrennt erfasst und tabellarisch geordnet. (Die Sektionsnummern werden in den folgenden Tabellen weggelassen, da eine Orientierung nach Tabelle Nr. 1 an Hand der fortlaufenden Nummerierung möglich ist.)

In der Altersgruppe von 15 bis 45 Jahren fällt auf, dass besonders der Pubertätsfall von 15 Jahren und die für das Auftreten der Hz. noch als relativ jugendlich aufzufassenden Fälle bis zu 25 Jahren eine besonders starke Aktivität aufweisen, selbst der 1. Fall, der bereits durch einen sehr hohen Zeitfaktor von 28 Stunden belastet ist. Die Grösse der Komplexe spielt hier keine Rolle, denn es handelt sich sowohl um grössere als auch um kleinere Komplexe, in

Tabelle Nr. 2

Aktivität in der Altersgruppe 15 - 45 Jahre.

L.N.	Alter	Zeitfaktor	Hz.Kompl.	Aktivität
17	15	28	gross	I
4	21	12	klein	I
19	24	16	klein	II - IV
20	25	12	gross	I - II
1	29	23	-	-
2	34	6	-	-
24	34	6	klein	II - III
26	40	8 1/2	mittel	III - IV
11	44	36	mittel	II - III
12	45	33 1/2	mittel	II - III

einem Fall sogar nur um einige Zellen.

Die letzten vier, auch altersmässig zusammenpassenden Fälle sind zwar im Aktivitätsgrad annähernd gleichartig, doch muss hier der sehr lange Zeitfaktor bis zu 36 Stunden berücksichtigt werden, der u.U. eine schwächere Aktivität vortäuschen kann. Es ist sogar sehr wahrscheinlich, dass die Fälle mit langem Zeitfaktor und geringer Aktivität - wenigstens ein Teil von ihnen - ursprünglich eine stärkere Aktivität aufweisen.

Mit aller Zurückhaltung stellen wir zunächst aufgrund der vorliegenden jugendlichen Fälle fest, dass in diesem Alter die Hz. eine starke Fermentwirksamkeit aufzuweisen scheinen.

Tabelle Nr. 3

Aktivität in der Altersgruppe 45 - 60 Jahre.

L.N.	Alter	Zeitfaktor	Hz.Kompl.	Aktivität
8	46	18 1/2	mittel	I
32	47	8 1/2	gross	I
9	5o	38	klein	II
1o	5o	36	gross	II - III
6	56	8	klein	III - IV
22	57	19	-	-
28	57	47	klein	III - IV
15	58	13	gross	I
18	58	18	gross	III - IV
31	59	9 1/2	gross	I
7	60	18 1/2	mittel	I - II

In diesem 10 Hz.positive Fälle umfassenden Lebensabschnitt ist das Überwiegen der starken (I), bzw. stärkeren (II) Aktivitätsgrade bemerkenswert, allerdings ohne dass eine genaue Beziehung zu den Lebensjahren oder der Grösse der Komplexe aufgestellt werden kann.

Wenn wir den Fall Nr. 28 mit seinem Zeitfaktor von 47 Stunden und der Aktivität von III - IV ausser Betracht lassen, erhalten wir folgendes Ergebnis: Von 9 untersuchten Hz.positiven Fällen weisen 7 Fälle eine starke oder stärkere Aktivität und nur 2 Fälle eine schwache auf. Wir sind aber der Auffassung, dass es sich bei diesem Vergleich nur um den

Versuch einer Aussage handeln kann, da sich eine exakte Deutung durch die zu geringe Zahl von Fällen und die störenden unterschiedlichen Zeitfaktoren verbietet.

Wir müssen uns daher mit der Feststellung begnügen, dass im Lebensalter von 45 - 60 Jahren die Fermentaktivität in den Hz. überwiegend stark zu sein scheint.

Tabelle Nr. 4

Aktivität in der Altersgruppe über 6o Jahre.

L.N.	Alter	Zeitfaktor	Hz.Kompl.	Aktivität
14	61	15	gross	II - III
13	68	20	klein	IV
3	72	23	gross	I - II
16	72	10	klein	III
21	74	33	gross	III - IV
3o	75	23	-	-
25	76	19	mittel	I
23	79	23	-	-
5	81	9	klein	III - IV
27	85	52	mittel	III - IV
29	85	25	gross	I - II
33	95	33 1/2	gross	II - IV

Eine Beurteilung dieser 10 Fälle wird besonders durch die störenden Zeitfaktoren erschwert. Allein 7 Fälle haben hier einen Zeitfaktor von über 23 Stunden, denen nur 3 gegen-

überstehen, die einen Zeitfaktor unter 20 Stunden aufweisen. Auch hier ist mit grosser Wahrscheinlichkeit, zumindest bei einem Teil der Fälle, die an sich vorhandene Fermentwirksamkeit häher zu veranschlagen als sie in dem wiedergegebenen Resultat zum Ausdruck kommt. Wir beobachteten jedoch auch in diesem Alter - in einem Fall sogar bei 95 Jahren - noch eine deutliche Fermentaktivität, wobei wir weder eine Zunahme noch eine Abnahme mit steigendem Alter feststellen können.

Stellen wir die drei Lebensabschnitte und die Aktivität der alkalischen Phosphatase in den Hz. gegenüber, so kommen wir, trotz der gebotenen grossen Zurückhaltung, zu folgendem Schluss:

Die Aktivität der alkalischen Phosphatase scheint zur Zeit der Pubertät und Postpubertät unabhängig von der Komplexgrösse durchschnittlich stark zu sein. Während der Geschlechtsreife scheint die Aktivität Schwankungen zu unterliegen, soweit die Befunde, die durch lange Zeitfaktoren teilweise sehr belastet sind, eine Aussage erlauben. Auffallend ist hier, dass selbst bei günstigen Zeitbedingungen nur eine schwache Aktivität auftritt. In der Menopause dann scheint die Aktivität durchschnittlich wieder an Intensität zuzunehmen und ist auch im Senium nicht erloschen, ja, ist hier offenbar häufig noch sehr stark.

Nachdem wir festgestellt haben, dass eine Fermentaktivität in allen Hz.positiven Fällen nachgewiesen werden kann, und dass wir Zelltypen mit unterschiedlicher Aktivität zu unterscheiden haben, interessiert die Frage, wo das Ferment

in den Hz. selbst lokalisiert ist. Zur Beantwortung dieser Frage beschäftigten wir uns vor allem mit den schwach aktiven Fällen, die auch nach dem Darstellungsverfahren noch Zellstrukturen mit Cytoplasma und Kern deutlich erkennen lassen.

Bei den Aktivitätsgraden I - II ist die Schwärzung dagegen oft so intensiv, dass wir bei Fällen, die keine Diffusionsartefakte aufweisen, die Hz. nur noch an der äusseren Form und dem Vergleich mit dem H.E.Präparat erkennen können ohne Differenzierung von Kern und Cytoplasma. Bei diesen Fällen ist es möglich, die inkubierten Hz.Komplexe schon mit unbewaffnetem Auge im Schnitt zu erkennen. Die Schwärzung ist streng auf die Komplexe lokalisiert und schliesst mit scharfen Grenzen zum umgebenden Gewebe ab.

Bei den Aktivitätsgraden III - IV, mitunter auch noch bei II, beobachteten wir in den fermenthaltigen Zellen eine diffus über das gesamte Cytoplasma verteilte Schwärzung. Diese diffuse Verteilung ist regelmässig anzutreffen, eine Bevorzugung bestimmter cytoplasmatischer Zonen wie Plasmaperipherie oder -zentrum oder paranukleäres Gebiet fanden wir niemals. Eine Anfärbung der Kerne bemerkten wir bei diesen Fällen nur dann, wenn durch zu lange Zeitfaktoren allgemeine Diffusionsvorgänge auch in die Umgebung der Hz. auftraten.

Mit zunehmender Fermentwirksamkeit fanden wir neben der diffusen Schwärzung des Cytoplasmas gleichzeitig auch eine verschieden intensive Anfärbung der Zellkerne, die von einer schwachen Konturierung der Kernmembran bis zur homogenen

Schwärzung des ganzen Kerns reicht. Wir halten die Anfärbung von Kernbestandteilen jedoch nicht für den Ausdruck der Wirksamkeit eines ursprünglich dort lokalisierten Fermentes, sondern - wie schon betont - für einen Artefakt. F e i g i n, W o l f und K a b a t haben besondere Untersuchungen bezüglich des Fermentgehalts der Zellkerne angestellt und mittels besonderer Verfahren überzeugend nachgewiesen, dass die Mitbeteiligung der Kerne bei der Darstellung der alkalischen Phosphatase im Cytoplasma mit starker Aktivität tatsächlich auf einem Artefakt beruht. Es wird angenommen, dass das Ferment post mortem in die Kerne hineindiffundiert und so zur Ursache der Kernanfärbung wird.

Auch wir konnten eine Mitbeteiligung der Kerne nur bei starker Aktivität im Cytoplasma beobachten, während bei schwach aktivem Cytoplasma diese Erscheinung nicht mehr auftrat. Wir möchten uns deshalb der allgemein herrschenden Auffassung anschliessen und auch für die Hz. eine Kernarmut an alkalischer Phosphatase annehmen.

Die Darstellung der Hz. im H.E.Präparat veranlasste uns zu einer weiteren Differenzierung, wobei wir drei verschiedene Erscheinungsformen der Hz. unterscheiden.

In der ersten, in unserem Untersuchungsmaterial weitaus grössten Gruppe zeigen die Hz. ein stark acidophiles, homogenes Cytoplasma mit unregelmässiger Kernlokalisation und scharfer Zellbegrenzung, hierher sind auch die hyperplastischen Zellformen zu rechnen. (Acidophile Zellen = A.Z.)

Bei der zweiten Gruppe ist das Cytoplasma der Hz. geringgradig bis stark vakuolisiert und erhält dadurch einen wabigen Charakter. Es handelt sich hier um besonders lipoidreiche Zellen, aus denen infolge der Materialaufbearbeitung die Lipoidkörper herausgelöst worden sind. (Vakuolisierte Zellen = V.Z.)

In der dritten Gruppe schliesslich ist der für die Erkennung der Hz. so charakteristische Zelleib nicht eindeutig nachweisbar. Hier sind im wesentlichen nur die ziemlich locker angeordneten rundlichen, bläschenförmigen Kerne zu erkennen, die häufig in ein weitmaschiges Fasergerüst eingelagert sind. Lediglich die Komplexanordnung und enge räumliche Beziehung zu den Hilusnerven erlauben eine Zuordnung zu den Hz. Es dürfte sich hier um die schon bei der Morphologie der Hz. erwähnten Umwandlungsformen handeln. (U.Z.)

Da diese unterschiedlichen Zellformen wahrscheinlich verschiedene Funktionszustände der Hz. darstellen, erscheint es von Interesse zu sein, die Fälle auch nach diesem Gesichtspunkt auf ihre Fermentwirksamkeit zu untersuchen.

Tabelle Nr. 5

Aktivität bei den verschiedenen Zellformen.

L.N.	Alter	Zeitfaktor	Z.Form	Aktivität
4	21	12	A.Z.	I
7	60	18 1/2	"	I - II
8	46	18 1/2	"	I
9	50	38	"	II

L.N.	Alter	Zeitfaktor	Z.Form	Aktivität
10	5o	36	A.Z.	II - III
12	45	33 1/2	"	II - III
14	61	15	"	II - III
15	58	13	"	I
17	15	28	"	I - II
19	24	16	"	II - IV
20	25	12	"	I - II
28	57	47	"	III - IV
29	85	25	"	I - II
31	59	9 1/2	"	I
32	47	8 1/2	"	I
6	56	8	V.Z.	III - IV
11	44	36	"	II - IV
13	68	20	"	IV
16	72	1o	"	III
18	58	18	"	III - IV
24	34	6	"	II - III
25	76	19	"	I
26	40	8 1/2	"	III - IV
3	72	23	U.Z.	I - II
5	81	9	"	III - IV
21	74	33	"	III - IV
27	85	52	"	III - IV
33	95	33 1/2	"	II - IV

Diese Zusammenfassung zeigt recht eindrucksvoll jeweils eine gewisse Gleichmässigkeit der Aktivitätsstärken bei den einzelnen Zellformen. So beobachteten wir bei den A.Z. regelmässig eine starke (I) bis stärkere (II) Aktivität - den Fall Nr. 28 berücksichtigen wir wegen des zu langen Zeitfaktors nicht. Dieser Befund ist insofern interessant, da wir seit D h o m wissen, dass gerade die A.Z. es sind, die einen positiven Ausfall der fuchsiønophilen Substanz ergeben. Es könnte sich hier also bereits ein Zusammenhang zwischen dem Gehalt an alkalischer Phosphatase und dem hormonellen Geschehen andeuten.

Dagegen zeigen die V.Z. durchschnittlich nur eine schwache Aktivität. Dies ist wohl daraus zu erklären, dass die so wichtigen, wahrscheinlich auch in einem Zusammenhang mit dem Hormonaufbau stehenden, Lipoidkörper herausgelöst sind und nur noch das cytoplasmatische Grundgerüst verblieben ist. Es ist kaum anzunehmen, dass das Ferment in diesem wohl hauptsächlich als Trägersubstanz fungierenden Grundgerüst lokalisiert ist, viel wahrscheinlicher ist es, dass es enge Beziehungen zu den Lipoidkörpern besitzt und mit diesen zusammen weitgehend entfernt worden ist.

Auch die schwachen Aktivitätsgrade in den U.Z. entsprechen den Erwartungen. Wir betrachten diese Zellen ja als in Umwandlung befindliche Hz.. Bei diesen durchweg hohen Altersfällen handelt es sich wahrscheinlich um Rückbildungsstadien, denen wir einen veränderten, wahrscheinlich verminderten Funktionszustand zusprechen.

III. Die Deutung der vorliegenden Ergebnisse und ihre Beziehung zu anderen endokrinen Organen.

Wie im vorhergehenden schon kurz angedeutet wurde, glauben wir aufgrund der vorliegenden Ergebnisse, dass die alkalische Phosphatase für den Stoffwechsel der Hz. von grosser Bedeutung ist, ja, da die Darstellung des Fermentes konstant in allen Fällen gelungen ist, möchten wir annehmen, dass das Ferment für den Zellstoffwechsel der Hz. sogar unentbehrlich ist. Welche Rolle das Ferment im einzelnen in den Hz. spielt, können wir allerdings mit Hilfe dieser Methode nicht klären. Wenn wir hier vom Stoffwechsel der Hz. sprechen, so meinen wir selbstverständlich nicht den elementar-vitalen Stoffwechsel, der zur Aufrechterhaltung des Zellebens überhaupt notwendig ist, sondern verstehen in diesem Zusammenhang den Stoffwechsel einer höheren Zellfunktion.

Für den elementar-vitalen Stoffwechsel der Hz. kann die alkalische Phosphatase keine Rolle spielen, soweit es sich um durch diese Methode erfassbare Phosphatase handelt, da wir sonst das Ferment in allen Zellen des Organismus finden müssten - das ist jedoch nicht der Fall. Nur diejenigen Zellen oder Organe enthalten in wechselnder Stärke wirksame alkalische Phosphatase, die besonders differenzierte Leistungen zu vollbringen haben, zu deren Voraussetzung wiederum ein höherer und komplizierterer Stoffwechsel gehört.

So konnte bisher die alkalische Phosphatase in embryo-

nalen Geweben nachgewiesen werden, in Zellen also mit einem seit langem bekannten gesteigerten Stoffwechsel. Das Ferment findet sich in allen Zellen mit sekretorischer Funktion wie Drüsenepithelien, ferner u.a. in den Tubulizellen der Niere und in den Leberepithelien. Auch der starke Fermentgehalt der resorbierenden Darmepithelien ist lange gesichert, und in neuester Zeit mehren sich auch die Untersuchungen, die von einem konstanten Fermentgehalt in endokrinen Organen sprechen.

Aus der unterschiedlichen Aktivität des Fermentes in den Hz. der einzelnen Fälle ist zu entnehmen - in der Annahme einer engen Relation zwischen der Stärke des Stoffwechsels und der Fermentwirksamkeit in dem Sinne einer linearen Zunahme der Fermentaktivität mit steigendem Stoffwechsel -, dass die Stoffwechselintensität der Hz. nicht gleichmässig in allen Lebensabschnitten ist, sondern gewisse Besonderheiten aufweist.

Zunächst einmal können wir annehmen, dass die Hz. analog ihrer starken Aktivität in der Pubertät und im jugendlichen Alter überhaupt einen gesteigerten Stoffwechsel besitzen, was die bisherigen Untersuchungen, die von einer besonderen Funktionstüchtigkeit der Hz. in diesem Alter sprechen - wobei die Funktionstüchtigkeit ja nichts anderes als der summarische Ausdruck der sich im einzelnen abspielenden Stoffwechselvorgänge ist -, stützt.

Über das Verhalten bis zum Klimakterium möchten wir uns einer klaren Aussage enthalten, weil hier die eigenen Unter-

suchungen keine ganz eindeutigen Vorstellungen über die Fermentwirksamkeit gebracht haben. Vielleicht ist in diesem Lebensabschnitt mit einer leichten Abnahme der Stoffwechseltätigkeit im Vergleich zu den jugendlichen Fällen zu rechnen.

Im Klimakterium können wir dann wieder eine Zunahme der Stoffwechselvorgänge beobachten, wie aus den durchschnittlich relativ starken Aktivitätsgraden hervorgeht. Im Senium erlischt die Stoffwechseltätigkeit dann keineswegs, sie bleibt erhalten, ja, in einigen Fällen scheint sie sogar gesteigert zu sein. Nur in denjenigen Fällen des Seniums, deren Hz. wir als Umwandlunsgzellen (Rückbildungszellen) histiozytären Charakters ansprechen müssen, scheint eine Verringerung des Stoffwechsels vorzuliegen.

Wir können den Hz. also aufgrund des Gehaltes an alkalischer Phosphatase, die im Organismus nur in Zellen mit bestimmten höheren Funktionen anzutreffen ist, ebenfalls eine besondere Funktion zusprechen. D h o m sieht diese besondere Funktion u.a. in der durch histochemische Verfahren wahrscheinlich gemachten Produktion von androgenen Substanzen, das heisst, er ordnet mit anderen Autoren die Hz. dem endokrinen System zu.

Können unsere Untersuchungen nun diese endokrine Bedeutung der Hz. durch Vergleich ihres Fermentgehalts mit dem in anderen endokrinen Organen stützen ?

In der Literatur finden wir in der Vielzahl histochemischer Arbeiten über die alkalische Phosphatase nur wenige,

die sich mit dem Fermentgehalt endokriner Organe befassen. Wahrscheinlich liegt das an der besonderen Empfindlichkeit dieser Organe, die den technisch an sich schwierigen Nachweis des Fermentes noch kompliziert, anderseits daran, dass am Sektionsmaterial bei endokrinen Organen mit besonders intensiven autolytischen Veränderungen gerechnet wird. An menschlichem Material sind daher nur vereinzelt Untersuchungen vorgenommen worden, die eigentlich allein zum Vergleich herangezogen werden sollten, denn, wie wir noch sehen werden, verhält sich die alkalische Phosphatase bezüglich der Lokalisation und auch der Intensität von Tierart zu Tierart verschieden.

Bei Pferden und Ochsen wurde mehrfach die Hypophyse untersucht und gefunden, dass sich neben den Kapillarendothelien nach längerer Inkubation im Hinterlappen die Pituizyten und im Vorderlappen die Chromophilen, besonders die Eosinophilen, schwärzen. Diesen Befund konnten R o m i e u, S t a h l und S e i t e an Katzenhypophysen bestätigen.

Bei der Ratte fand E r ä n k ö eine Fermentaktivität im Bereich des Nucleus supraopticus und des Nucleus paraventricularis, also in Zentren, denen in neuester Zeit eine wesentliche Bedeutung bei der Freisetzung des antidiuretischen Hormons zugeschrieben wird. Im übrigen Rattenhirn liess sich bis auf den Plexus chorioideus keine alkalische Phosphatase nachweisen.

In der Schilddrüse der Ratte sah S t e g e r eine Aktivität wieder in den Gefässendothelien, aber auch in den

Follikelepithelien.

Die Befunde in den hormonbildenden Zellen des menschlichen Ovars (Thecazellen und Granulosaluteinzellen) von O b e r und G e n e s i wurden schon besprochen.

Die menschliche Nebenniere wurde bisher systematisch nur an Keimlingen untersucht (R o s s i, P e s c e t t o, R e a l e), bei denen man bereits eine kräftige Reaktion nachweisen konnte. Im ganzen existieren über die menschliche Nebenniere bisher nur Einzeldarstellungen, die aber schon erkennen lassen, dass sich eine Fermentwirksamkeit im Cytoplasma und auch in den Kernen (cave Artefakt) darstellen lässt.

V e r n e, H e b e r t und C h a r p a l beobachteten in Rattennebennieren eine Fermentreaktion in der Zona glomerulosa (Sinusoidendothelien und Zellkerne) und in der Zona fasciculata (diffuse Schwärzung). Die gleichen Autoren beobachteten bei Schafen und Widdern eine Aktivität besonders in der Zona fasciculata, nach innen zu abnehmend, mit starker Schwärzung des Cytoplasmas.

Auch E g e r, G o t t e s l e b e n und T i e t j e n untersuchten Rattennebennieren, kamen jedoch zu etwas abweichenden Ergebnissen: Gleichmässige Verteilung der Phosphatase über alle Zonen und fast ausschliessliche Lagerung in den Kapillarwänden. Bei Meerschweinchen dagegen fanden sie eine Aktivität nur in der Zona glomerulosa und in der Zona fasciculata, die Zonareticularis ist hier fast negativ. Das Ferment ist hier weniger an die Kapillarwände gebunden,

es ist vielmehr hauptsächlich im Cytoplasma lokalisiert. Das Nebennierenmark ist bei beiden Tierarten frei von alkalischer Phophatase.

Interessant ist die Beobachtung, dass vor allem bei Mäusen ein unterschiedliches Verhalten der männlichen und weiblichen Tiere besteht, wobei die männlichen Tiere weit mehr Ferment enthalten sollen als die weiblichen.

Aus diesen Beobachtungen können wir unabhängig von den z.T. voneinander abweichenden Ergebnissen entnehmen, dass die bisher untersuchten endokrinen Organe, bzw. hormonbildenden Zellen regelmässig alkalische Phosphatase enthalten. Wir folgern daraus, dass die alkalische Phosphatase bei der Katalysierung aller jener Stoffwechselvorgänge mitbeteiligt zu sein scheint, die zum Aufbau der Hormone führen.

D h o m hat nun festgestellt, dass durch den Nachweis der fuchsinophilen Substanz in den Hz. sehr wahrscheinlich ist, dass auch in den Hz. Steroid-Eiweisskomplexe gebildet werden, die Beziehung zu den Stoffen der Nebennierenrinde, der Leydig'schen Zwischenzellen des Hodens und des Corpus luteum haben. Diese Auffassung von der endokrinen Bedeutung der Hz. glauben wir durch die eigenen Untersuchungen mit gestützt zu haben, wenn wir den regelmässigen Gehalt an alkalischer Phosphatase in den Hz. mit den Befunden in anderen endokrinen Organen und Zellsystemen vergleichen. Selbstverständlich kann der Gehalt an alkalischer Phosphatase allein kein Beweis für eine hormonelle Tätigkeit in den Hz. sein. Aber zusammen mit den histochemischen Be-

obachtungen von D h o m halten wir uns zu dieser Aussage für berechtigt, wie wir aufgrund der vorhandenen Fermentwirksamkeit im Senium auch die Auffassung D h o m s vom Erhaltenbleiben der aktiven Zelleistung in diesem Lebensabschnitt bestätigen können.

Es soll abschliessend noch einmal betont werden, dass wir in Anbetracht des unter unterschiedlichen Bedingungen anfallenden Materials und der dadurch möglichen Beeinflussung der Methodik die erhobenen Befunde nur mit grosser Zurückhaltung deuten konnten. Abgesehen davon muss man sich bei diesen Untersuchungen immer vor Augen halten, " dass der Fermentgehalt irgendeines Gewebes immer eine Resultante der verschiedensten und noch gänzlich unbekannten Faktoren ist " (O p p e n h e i m e r).

Zusammenfassung.

Es wird über den Nachweis der alkalischen Phosphatase in den Hiluszellen des menschlichen Ovars an Hand von 33 Fällen berichtet. Dabei hat sich folgendes ergeben:

1. Bei den 33 Fällen wurden 28 mal (84,8 %) Hz. gefunden. In allen Fällen mit einem positiven Hz.Befund liess sich eine Aktivität der alkalischen Phosphatase nachweisen.
2. Bei Ausschaltung der störenden Zeitfaktoren erweist sich die Aktivität des Fermentes als inkonstant, wobei die Schwankungen auch die verschiedenen Komplexe des gleichen Falles betreffen. Es wurden verschiedene Zelltypen

mit unterschiedlicher Aktivität beobachtet.

3. In den einzelnen Lebensabschnitten verhält sich das Ferment unterschiedlich. In der Pubertät und im jugendlichen Alter scheint die Aktivität stark zu sein, unterliegt zur Zeit der Geschlechtsreife gewissen Schwankungen, scheint dann in der Menopause wieder zuzunehmen und ist auch im Senium nicht erloschen.
4. Das Ferment ist nur im Cytoplasma lokalisiert und zwar diffus ohne Bevorzugung bestimmter Regionen. Eine teilweise auftretende Mitbeteiligung der Kerne wird als Artefakt angesprochen. Die acidophilen Zellen sind besonders reich an alkalischer Phosphatase, während die vakuolisierten Zellen und die sogenannten histiozytären Umwandlungsformen nur eine schwächere Aktivität besitzen.
5. Aufgrund des Vorkommens der alkalischen Phosphatase nur in den Zellen mit einer bestimmten aktiven Zelleistung wird auch den Hz. eine besondere Funktion zugesprochen.
6. In Analogie zum konstanten Auftreten der alkalischen Phosphatase in allen bisher daraufhin untersuchten hormonbildenden Zellen wird auf eine Mitbeteiligung des Fermentes am hormonellen Stoffwechselgeschehen geschlossen und mit grosser Wahrscheinlichkeit - unter Berücksichtigung anderer histochemischer Untersuchungen - eine endokrine Tätigkeit der Hz. angenommen.

Herrn Priv. Doz. Dr. med. G. D h o m danke ich verbindlichst für die Überlassung des Themas und die Unterstützung, die er mir bei der Anfertigung der Arbeit zuteil werden liess.

Ebenso habe ich Herrn Professor Dr. med. E. K i r c h für die Übernahme des Korreferates zu danken.

Literaturverzeichnis.

1. Arnhold W.	Verh.Dt.Ges.Path. 1948/125
2. Bamann E.u.Myrbäck K.	Die Methoden der Fermentforschung Leipzig 1941
3. Berger L.	V.A. 263 (1927) 247
4. Berger L.	Rev.Canad.Biol. 1942/1/539
5. Danielli	zit. n.Mayno u.Rouiller
6. Dhom G.	Verh.Dt.Ges.Path. 1953/328
7. Dhom G.	Habilitationsschrift Würzburg 1953
8. Doyle	zit.n.Goebel u.Puchtler
9. Eger W.u.Geller H.F.	V.A. 322 (1952) 645
1o. Eger,Gottesleben u. Tietjen	V.A. 324 (1953) 173
11. Eränkö O.	Acta physiol.scand. 24 (1951) 1
12. Feigin, Wolf u.Kabat	Amer.J.Path. 26 (1950) 647
13. Genesi M.	Minerva ginecol. 5 (1953) 302
14. Goebel u.Puchtler	Zentralbl.f.Path. 92 (1954) 159
15. Gomori A.J.	Microsc.Histochemistry Chikago 1952
16. Jacoby F.u.Martin B.	Nature 163 (1949) 875
17. Mayno G.u.Rouiller Ch.	V.A. 321 (1951) 1
18. Möllendorf u.Bargmann	Handbuch der Mikrosk. Anatomie des Menschen VI_5 402 Springer 1954
19. Neumann H.O.	V.A. 263 (1927) 247
2o. Neumann H.O.	V.A. 273 (1929) 511
21. Neumann K.H.	zit.n.Möllendorf u.Bargmann
22. Novikoff	zit.n.Goebel u.Puchtler

23. Ober K.G. Klin.Wschr.28 (1950) 9

24. Oppenheimer C. Die Fermente und ihre Wirkungen Junk-Verlag Den Haag 1935

25. Romieu M.u.Stahl A. Cr.Assoc.Anat.59 (1950) 605

26. Romieu, Stahl u.Seite AArch.d'Anat. 34 (1952) 369

27. Roulet Fr. Methoden der Path.Histologie Springer 1954

28. Steger K. Acta Anat. 11 (1951) 246

29. Sternberg W.H. J.of Path. 25 (1949) 493

30. Verne, Hebert u.Charpal Cr.Assoc.Anat. 7o (1952) 977

31. Wallart J. Arch.Gyn. 138 (1929) 546

32. Wallart J. Arch.Gyn. 143 (1930) 176

Lebenslauf

Am 23.11.1928 wurde ich, Hans-Joachim Mende, als Sohn des prakt. Zahnarztes Dr.Georg Mende und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Mende, in Magdeburg geboren. Dort besuchte ich von Ostern 1935 bis Ostern 1939 die Volksschule und von Ostern 1939 bis zum Sommer 1944 die Otto v. Guericke Oberrealschule. Im April 1945 kam ich als Mitglied des Volkssturms in amerikanische Gefangenschaft, aus der ich im Juli 1945 entlassen wurde. Von Oktober 1945 bis Juli 1947 besuchte ich nochmals die Otto v. Guericke Oberrealschule und legte dort die Reifeprüfung ab. Das medizinische Studium begann ich im Wintersemester 1948/49 in Würzburg, bestand hier im April 1951 die ärztliche Vorprüfung und am 11.8.1954 das medizinische Staatsexamen. Am 15.10.1954 begann ich meine Tätigkeit als Pflichtassistent am Pathologischen Institut der Universität Würzburg.

Ich versichere ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und ausser der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, dass ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Hans-Joachim Mende

RUDOLF BAEHR DRUCK- UND WERBETECHNIK
WÜRZBURG EGLOFFSTEINSTR. 3